

学位授与番号	甲第 1769 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 22 日
氏 名	山内 健輔
学位論文題目	Real-time in vivo Dual-Color Imaging of Intracapillary Cancer cell and Nucleus Deformation and Migration (生体内毛細血管における、2 色でラベリングした癌細胞とその核の変形と遊走)
論文審査委員	主 査 教 授 大井 章史 副 査 教 授 中沼 安二 佐藤 博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

血行性転移は癌転移の主経路の 1 つであるが、全身に播種され微小血管に詰まった癌細胞の動態については依然として不明の点が多い。本研究では、癌細胞が毛細血管に詰まった際の癌細胞の変形および遊走を観察した。詳細な細胞の動的変化を視覚化するため、細胞質には赤色蛍光蛋白(red fluorescent protein: DsRed2)、核にはヒストン H2B にリンクした緑色蛍光蛋白(green fluorescent protein: GFP)を発現するヒト線維肉腫 HT-1080 (HT-1080 dual-color cell) を用いた。ヌードマウスの心臓に 5×10^6 個の HT-1080 を注射し、腹部の皮膚をフラップ状に展開しその内側の血管を CCD カメラを用いて観察した。

小動脈内の HT-1080 は丸く、核は球形もしくは楕円形で、細胞および核の平均長径は、それぞれ $23.3 \mu\text{m}$ 、 $16.8 \mu\text{m}$ であった。毛細血管内では、血管径にしたがって癌細胞には細胞質のみならず核にも変形がみられ、非常に細い毛細血管では細胞質の断片化も見られた。毛細血管に詰まった HT-1080 細胞および核の平均長径は $92.6 \mu\text{m}$ 、 $27.6 \mu\text{m}$ であった。すなわち細胞全体としては 4 倍の伸展があったが、核の伸長は 1.6 倍にとどまった。この実験モデルでは同一細胞の細胞注射後 2 時間から 14 時間にわたる経時的観察が可能であった。遊走に関しては、HT-1080 が直径 $8 \mu\text{m}$ 以上の毛細血管に詰まった場合、80%の細胞に遊走がみられ、その最大遊走速度は $48.3 \mu\text{m/hr}$ であった。一方、径 $8 \mu\text{m}$ 以下の血管では 84%の細胞が血管内で静止した状態であった。

この実験のために樹立されたスキNFLラップモデルは、マウスの呼吸や心拍が観察に影響しない、24 時間後でも皮膚の再縫合が可能で致死的な操作とならない、といった利点があり、Dual-color 細胞を使った動態の観察と合わせ、転移のメカニズムを調べる上で全く新しい手法であり、有力なモデルと考えられた。

以上、本研究は蛍光蛋白で標識した癌細胞を使い、毛細血管内における癌細胞の変形を生体内で直接観察したものであり、転移のメカニズムの解明に貢献するものと考えられ、学位論文に値すると評価された。